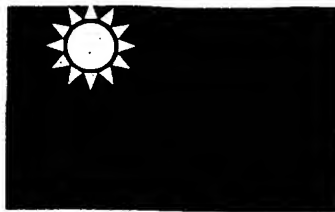


Best Available Copy



中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE  
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS  
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，  
其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this  
office of the application as originally filed which is identified hereunder:

申請日：西元 2003 年 01 月 30 日  
Application Date

申請案號：092102129  
Application No.

申請人：翰沃生電科技股份有限公司、江安世  
Applicant(s)

CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT

局長  
Director General

蔡練生

發文日期：西元 2004 年 2 月 3 日  
Issue Date

發文字號：09320127450  
Serial No.

# 發明專利說明書

(填寫本書件時請先行詳閱申請書後之申請須知，作※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：\_\_\_\_\_ ※IPC 分類：\_\_\_\_\_

※ 申請日期：\_\_\_\_\_

## 壹、發明名稱

(中文) 生物顯微鏡影像技術以正反掃描與 3 D  
影像套合達到增加景深及解析度之方法

(英文) \_\_\_\_\_

## 貳、發明人 (共 1 人)

發明人 1 (如發明人超過一人，請填說明書發明人續頁)

姓名：(中文) 江安世  
(英文) \_\_\_\_\_

住居所地址：(中文) 新竹市光復路二段 305 號 5 樓  
(英文) \_\_\_\_\_

國籍：(中文) 中華民國 (英文) \_\_\_\_\_

## 參、申請人 (共 2 人)

申請人 1 (如發明人超過一人，請填說明書申請人續頁)

姓名或名稱：(中文) 翰沃生電科技股份有限公司  
(英文) \_\_\_\_\_

住居所或營業所地址：(中文) 台北市建國北路一段 156 號 12 樓  
\_\_\_\_\_  
(英文) \_\_\_\_\_

國籍：(中文) 中華民國 (英文) \_\_\_\_\_

代表人：(中文) 李昭考  
(英文) \_\_\_\_\_

☐ 續發明人或申請人續頁 (發明人或申請人欄位不敷使用時，請註記並使用)

說明書申請人續頁

申請人 2

姓名或名稱：(中文) 江安世

(英文)

住居所或營業所地址：(中文) 新竹市光復路二段 305 號 5 樓

(英文)

國籍：(中文) 中華民國 (英文)

代表人：(中文)

(英文)

## 肆、中文發明摘要

本發明提供一種生物顯微鏡影像技術以正反掃描與 3D 影像套合達到增加景深及解析度之方法，其目的是為了得到景深更深的立體影像而使顯微鏡立體影像厚度加大以提高影像的解析度者。其做法是先利用樣本包埋凝膠將樣本固定在三維空間後，將樣本分別從正、反面進行掃描，然後進行立體影像套合，以得到景深更深的顯微鏡立體影像。立體影像套合方法為結合快速傅利葉轉換、Sobel 邊緣檢測、與相關匹配等方法來判定正面與反面掃描所得影像組在 Z 軸上的重疊位置，再使用快速傅利葉轉換方法找出 X、Y 方向的平移及以 Z 軸旋轉的角度，以調整上下層影像組的位置，使得出的影像為完整之立體影像。

## 伍、英文發明摘要

陸、(一)、本案指定代表圖為：第\_\_\_\_圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

柒、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

捌、聲明事項

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項第一款但書或第二款但書規定之期間，其日期為：\_\_\_\_\_

☐ 本案已向下列國家（地區）申請專利，申請日期及案號資料如下：

【格式請依：申請國家（地區）；申請日期；申請案號 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

☐ 主張專利法第二十四條第一項優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；日期；案號 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_
6. \_\_\_\_\_
7. \_\_\_\_\_
8. \_\_\_\_\_
9. \_\_\_\_\_
10. \_\_\_\_\_

☐ 主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

【格式請依：申請日；申請案號 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

☐國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

☐熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

## 玖、發明說明

（發明說明應敘明：發明所屬之技術領域、先前技術、內容、實施方式及圖式簡單說明）

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係一種配合樣本包埋凝膠的使用，做正、反掃圖後將兩影像組做影像套合，增加可取像範圍之景深以達到提高顯微鏡影像解析度之方法。本發明主要但不限於生物顯微影像之立體影像套合。

### 【先前技術】

習知的共軛焦顯微鏡是藉由去除非焦面所產生的雜訊，以取得在樣本中不同深度之高解析度顯微影像。其主要原理可分為三個步驟來說明：首先雷射光線可以經由物鏡聚焦成單一的光點，來照射樣品單點的特定深度；另外，由焦點反射或發散的光線還可經由物鏡聚焦成單一的光束，完全通過影像偵測器前的針孔（pinhole aperture）；最後，其他在焦點之上及之下非焦點所產生的雜訊光子則在此針孔周圍被阻擋下來，因而確保偵測器獲取焦面訊號的準確性，進而達到所欲得到之不同深度高解析度的顯微影像（如圖一所示）。因此，針孔越小，便能去掉越多的雜訊，而得到專一且清晰的顯微影像了。

比較共軛焦顯微鏡與傳統式的顯微鏡，前者明顯地具有較多的優點：在傳統式的螢光顯微鏡中，若要觀察厚片生物組織在 Z 軸方向的影像，僅能侷限地觀察到所使用物鏡景深之內的有限焦面範圍，超出了這個範圍，非焦面的光線將會嚴重影響焦面的光線，致使對比消弱與影像模糊，並且，若觀察的樣本同時會散發多種螢光，則欲得到的各種單一螢光的影像都將混雜有其他光譜螢光的雜訊；而共軛焦顯微鏡則是專對這

些厚片螢光樣本（如生物細胞組織）所設計的，它光學截面的功能可以大幅減低傳統顯微鏡所無法去除的非焦面性雜訊，在多重螢光的樣本上，也能確切地分開不同光譜範圍的螢光訊息，而得到多重螢光厚片組織之不同深度的清晰顯微影像。

目前為增加顯微鏡掃圖的景深，所使用之方法有二種，一為利用二台顯微鏡架設於樣本的正面及反面的位置，計算好相對位置後，分別從正面與反面做共軛取像，所得的影像厚度大約是單台顯微鏡所能得到的影像組厚度的兩倍，但此做法卻大大地增加所需的硬體成本。其二為利用多光子顯微鏡之技術來增加影像組之厚度，其硬體成本亦會較高，且若將本發明配合多光子顯微鏡使用，可得到的景深約為單獨使用多光子顯微鏡景深的 2 倍。

#### 【發明內容】

本發明為了得到厚度更深的立體影像，係將樣本做正面掃圖與反面掃圖，由於樣本在三維空間是被樣本包埋凝膠固定住的，所以正、反掃圖翻轉前與翻轉後所取得的影像只會發生在 X Y 平面上的平移，與以 Z 軸為軸心旋轉的差異，不會發生在三維空間中  $\phi$  角的轉動；找到 Z 軸上的重疊位置後，取翻轉前與翻轉後重疊部份中的各一片影像，計算翻轉前與翻轉後所取得的影像在 X Y 平面上的平移量，與以 Z 軸為軸心的旋轉量，再以正面掃圖的影像組當做參考，調整反面掃圖影像的 Z 軸座標、X Y 平面的平移量，與以 Z 軸為軸心的旋轉量，即可將兩組連續影像重建成為一組完整的立體影像。其確定正、反面掃圖影像組在 Z 軸上的重疊位置，是利用快速傅利葉轉換方法縮小所要尋找 Z 軸上的重疊位置的範圍，使用 Sobel 邊緣檢測的概念，找出影像中邊緣變化最大的區域，再利用此區域使用相關匹配之方法，判斷出反面掃圖內，與正面掃圖中被選定的影像 A 最相似的影像（其流程如圖八所示），以判斷正、反掃圖 Z 軸上的重疊位置。一旦決定正、反面掃圖影像組在 Z 軸上的重疊位置，再使用快速傅利葉轉換方法找出 X、Y 方向的平移及以 Z 軸旋轉的角度，以調整上、下層影像組的位置，使得出的影像為完整之立體影

像。

本發明爲了得到厚度更深的立體影像，乃將樣本做正面掃圖與反面掃圖；如圖二所示，其中粗線矩形框爲正、反掃圖影像組重疊的區域，由於樣本被包埋凝膠固定在三維空間中，使得正、反掃圖翻轉前與翻轉後所取得的影像只會發生在X Y平面上的平移，與以Z軸爲軸心旋轉的差異，利用正、反掃圖立體影像重疊部份找出Z軸上的重疊位置，取正面掃圖與反面掃圖重疊區域內各一片影像，計算正面掃圖與反面掃圖所取得的影像在X Y平面上的平移量，與以Z軸爲軸心的旋轉量，以正面掃圖的影像組當做參考，調整反面掃圖影像的Z軸座標、X Y平面的平移量，與以Z軸爲軸心的旋轉量，如此便可得到一組完整的立體影像。整個顯微鏡正、反掃圖影像套合系統流程圖如圖三所示。

以下介紹本發明中所使用到的技術與技巧：

#### 1. 快速傅利葉轉換應用於影像套合

使用快速傅利葉轉換於影像套合是利用傅利葉轉換的相位關係。若兩影像僅有平移的差異，即如影像  $f_2$  是  $f_1$  平移  $(x_0, y_0)$  的結果，則兩影像關係如式(1)。

式(1)做傅氏轉換後得式(2)，其中兩者之間的位移關係  $(x_0, y_0)$ ，

$$f_2(x, y) = f_1(x - x_0, y - y_0) \quad (1)$$

$$F_2(\xi, \eta) = e^{-j2\pi(\xi x_0 + \eta y_0)} \times F_1(\xi, \eta) \quad (2)$$

僅出現在相位項  $e^{-j2\pi(\xi x_0 + \eta y_0)}$  中。

相位項可由式(3)計算得之，其中  $F^*$  爲  $F$  的共軛複數。

將式(3)中的相位項  $e^{-j2\pi(\xi x_0 + \eta y_0)}$  做反傅氏轉換後，由反傅式轉換的計算結果，其脈衝位置即可決定  $(x_0, y_0)$ 。式(4)爲傅氏轉換與反傅氏轉換對之關係。

$$\frac{F_2(\xi, \eta) F_1^*(\xi, \eta)}{|F_2(\xi, \eta) F_1^*(\xi, \eta)|} = e^{-j2\pi(\xi x_0 + \eta y_0)} \quad (3)$$

$$\delta(x - x_0, y - y_0) \Leftrightarrow e^{-j2\pi(\xi x_0 + \eta y_0)} \quad (4)$$

當兩張影像同時發生旋轉與平移時如式(5)。

$$f_2(x, y) = f_1(x \cos \theta_0 + y \sin \theta_0 - x_0, -x \sin \theta_0 + y \cos \theta_0 - y_0) \quad (5)$$

式(5)取快速傅利葉轉換後，兩影像在頻域的相對關係如式(6)。

$$F_2(\xi, \eta) = e^{-j2\pi(\xi x_0 + \eta y_0)} \times F_1(\xi \cos \theta_0 + \eta \sin \theta_0, -\xi \sin \theta_0 + \eta \cos \theta_0) \quad (6)$$

式(6)取其振幅  $M$ 、 $M_2$  如式(7)所示，其中  $M$ 、 $M_2$  分別為  $F_1$ 、 $F_2$  的振幅。觀察式(7)， $M_2$  是  $M$  旋轉了  $\theta_0$  度的結果，對  $M$ 、 $M_2$  做極座標轉換後得式(8)。

$$M_2(\xi, \eta) = M_1(\xi \cos \theta_0 + \eta \sin \theta_0, -\xi \sin \theta_0 + \eta \cos \theta_0) \quad (7)$$

$$M_1(\rho, \theta) = M_2(\rho, \theta - \theta_0) \quad (8)$$

觀察式(8)， $M$  與  $M_2$  之間變成平移的關係，其平移量為  $\theta_0$ ，利用上述傅利葉轉換的相位關係就可解得  $\theta_0$ 。接下來將  $f_1$  旋轉  $\theta_0$  後得  $f'_1$ ， $f'_1$  與  $f_2$  之間就只剩平移的關係，再利用傅利葉轉換的相位關係就可得知  $(x_0, y_0)$ ，整個執行的過程請參照圖四所示。影像做傅氏轉換後的高頻部份包含原始圖形的重要特徵，所以在做極座標轉換前加入高通濾波器，提高角度評估的準確度，其規格如式(9)，其中  $D_0 = 0.3$ 。

$$H(u, v) = \begin{cases} 0 & \text{if } D(u, v) \leq D_0 \\ 1 & \text{if } D(u, v) > D_0 \end{cases} \quad (9)$$

## 2. Sobel 邊緣檢測

本發明使用 Sobel 運算子做邊緣檢測，在 Sobel 運算子對影像  $f$  做完邊緣檢測後，影像  $f$  上的每個像素點會得到梯度強度大小  $|\nabla f|$ ，圖五(b)為 Sobel 運算子對圖五(a)做完邊緣檢測後之梯度強度影像，其梯度強度值越大(影像上越亮)，代表該處是越明顯的邊緣，即影像明亮變化大的地方，本發明利用影像  $f$  完成邊緣檢測後的梯度強度影像，尋找影像  $f$  內有明顯邊緣變化的區域。設定一適當大小的區塊，尋找影像  $f$  的梯度強度圖中在



區塊內 $|\nabla f|$ 總和最大的位置，此位置為影像  $f$  內有明顯邊緣變化的區域如圖五(c)，利用此區域當做樣板，突顯其餘待比對之影像與樣板間的差異性，以利後續做相關匹配之用。

### 3. 相關匹配方法

利用相關匹配之方法如式(10)所得的相關係數  $r(s, t)$ ，可在影像  $f$  中找出與樣板  $w$  最相似的區域。 $w(x, y)$  樣板(template)在  $M \times N$  的影像  $f(x, y)$  內由左而右，由上而下移動使用式(10)得到  $r(s, t)$  相關係數，其中  $s=0, 1, 2, \dots, M-1$ ， $t=0, 1, 2, \dots, N-1$ ， $T$  為影像  $f$  與樣板  $w$  重疊的區域，即式(2-1)只在重疊區域進行， $\bar{f}(x, y)$  代表影像  $f$  與樣板  $w$  重疊的區域亮度平均值， $\bar{w}$  代表樣板  $w$  亮度平均值。

如圖六，其中  $f(x, y)$  的原點位於左上角， $w(x, y)$  的原點位於它的中心，位於  $f(x, y)$  內的任何位置  $(s, t)$  都使用式(10)得到一相關係數  $r$

$$r(s, t) = \frac{\sum_{xy \in T} [f(x, y) - \bar{f}(x, y)][w(x-s, y-t) - \bar{w}]}{\left\{ \sum_{xy \in T} [f(x, y) - \bar{f}(x, y)]^2 \sum_{xy \in T} [w(x-s, y-t) - \bar{w}]^2 \right\}^{1/2}} \quad (10)$$

$(s, t)$ ，而相似度數值最高的位置即是  $f(x, y)$  中與  $w(x, y)$  最相似的區域，相關係數  $r(s, t)$  的取值範圍為  $-1 \leq r(s, t) \leq 1$ 。

### 4. 確定正、反面掃圖影像組在 Z 軸上的重疊位置

確定 Z 軸上的重疊位置就是要找到兩影像組中相同的影像，以確定重疊區域的位置。第一步是利用上述快速傅利葉轉換方法計算兩影像間旋轉角度的過程中所得到的峰值(peak)來做判斷，因為當兩張極相似的影像(例如：影像 A 與影像 B 極相似)之間的差異為旋轉與平移，所得到的峰值會比將影像 B 換成影像 C 時(影像 A 與影像 C 不相似)做相同的運算所得的峰值要來得高許多，所以在反面掃圖影像組中與正面掃圖影像 A 較相似的幾片影像位於最突出峰值的附近，如圖七最突出峰值位於粗線矩形框內，所以與影像 A 較相似的幾片影像位於反面掃圖的第 11 片附近(此處定義這幾片影像為「影像群 K」，以方便後文述敘)，利用此觀念找出粗略的定位 Z

軸上的重疊位置，縮小所要比對的影像片數，以減少後序的計算量。然而這幾片影像都有可能是反面掃圖中與正面掃圖的影像 A 最相似的影像。計算從反面掃圖中所選取的影像群 K 每一張影像與影像 A 在 X Y 平面上的平移量與以 Z 軸旋轉的角度，調整其平移量與旋轉的角度，再利用上述所提之 Sobel 邊緣檢測的概念，找出影像中邊緣變化最大的區域，利用此區域使用相關匹配之方法，判斷出反面掃圖內與正面掃圖中的影像 A 最相似的影像，決定正、反面掃圖影像組在 Z 軸上的重疊位置，其過程如圖八所示。最後，定位了 Z 軸上的重疊位置後，取正面掃圖與反面掃圖重疊區域內各一片影像，計算正面掃圖與反面掃圖所取得的影像在 X Y 平面上的平移量與以 Z 軸的旋轉量，以正面掃圖的影像組當做參考，調整反面掃圖影像的 Z 軸座標、X Y 平面的平移量，與以 Z 軸為軸心的旋轉量。

### 【實施方式】

#### [第一實施例]

圖九為生物樣本正、反面掃圖之表面圖，取正面掃圖的最下面一張影像與反面掃圖的每一張影像，利用快速傅利葉轉換方法計算兩影像間旋轉角度的過程中所得到的峰值(peak)來做判斷，找出正面掃圖的最下面一張影像相對於反面掃圖影像組在 Z 軸上的大致位置(如圖七所示)。再利用上述所提之 Sobel 邊緣檢測的概念，找出影像中邊緣變化較大的區域如圖五(c)的粗線矩形框即為影像中邊緣變化較大的區域。利用此區域使用相關匹配之方法，判斷出反面掃圖內與正面掃圖中的影像 A 最相似的影像。決定正、反面掃圖影像組在 Z 軸上的重疊位置。整個確定 Z 軸上的重疊位置流程係如圖八所示。在確定 Z 軸上的重疊位置後，取正面掃圖與反面掃圖重疊區域內各一片影像，計算正面掃圖與反面掃圖所取得的影像在 X Y 平面上的平移量，與以 Z 軸為軸心的旋轉量(如圖四所示)，再以正面掃圖的影像組當做參考，調整反面掃圖影像的 Z 軸座標、X Y 平面的平移量，與以 Z 軸為軸心的旋轉量，如此便可得到一組完整的立體影像。圖十為此生物樣本正、反掃圖做影像套合後之完整立體影像，其厚度約為正面掃圖的 2 倍。

#### [第二實施例]

果蠅的大腦厚度約  $160\ \mu\text{m}$ ，將腦神經細胞標示綠色螢光蛋白，利用  $488\ \text{nm}$  雷射去激發它可得到完整的 3D 大腦影像。但我們可清楚的發現雷射掃描所得的影像越到底部就越模糊了。其主要原因為生物樣本具有吸光性，激發光的能量或放射光的能量被樣本吸收，而導致所取得的立體影像在某個深度以下是非常不清楚的。利用本發明所提之方法，僅需掃描至稍微超過一半腦的深度得到正面掃圖與反面掃圖之清晰立體影像組後再做影像套合即可得到完整而清晰的 3D 大腦影像。

#### [第三實施例]

一般作共軛焦顯微影像掃描是將生物組織薄片包埋於甘油中去進行顯微影像掃描及記錄。配合本發明之方法，可描掃之生物組織薄片厚度可提高至接近原先生物組織厚度的二倍，即先將生物組織用樣本包埋凝膠固定於三維空間後，利用共軛焦顯微鏡掃描至稍微超過一半腦的深度得到正面掃圖與反面掃圖之清晰立體影像組後再做影像套合即可得到完整而清晰的 3D 生物組織影像，其立體影像厚度約為一般包埋於甘油中進行顯微影像掃描所得影像厚度的二倍。

#### [第四實施例]

一般作共軛焦顯微影像掃描是將生物組織薄片包埋於甘油中去進行顯微影像掃描及記錄。若改使用 FocusClear 澄清組織再包埋於 MountClear™ 則可大大加深可描掃之景深。若再配合本發明之方法，所得之立體影像厚度可再提高一倍，為單配合 FocusClear 澄清組織再包埋於 MountClear™ 之方法的二倍。

#### [第五實施例]

為取得老鼠全腦之影像必需先將成鼠的大腦做震動切片，傳統的作法為將約  $4\ \text{mm}$  厚的成鼠的腦切成 100-200 片  $10\text{-}20\ \mu\text{m}$  的薄片包埋於甘油

中去進行顯微影像掃描及記錄。如果使用 FocusClear 澄清組織再包埋於 MountClear™，則可掃描約 200  $\mu\text{m}$  的厚片。若再利用本發明之方法則可得到 400  $\mu\text{m}$  厚片組織內的清楚影像，而一個完整成鼠腦則僅需切成約 10 片 400  $\mu\text{m}$  厚的組織片，故利用本發明之方法不但可以有效的增加立體影像的景深深，且在厚度大之生物組織如成鼠的全腦可以有效的減少切片數。

#### [第六實施例]

配合多光子顯微鏡的使用，利用本發明所提之方法，先利用多光子顯微鏡做正面掃圖與反面掃圖再做影像套合，即可得到立體影像的厚度（景深）約為單使用多光子顯微鏡的兩倍。也就是說，一個完整成鼠腦約 4mm 僅需切成 5 片 800  $\mu\text{m}$  的厚片，包埋於 MountClear™ 中，正、反面掃圖後再利用本發明做影像套合，即可得到完整大腦的顯微影像。

#### 【圖式簡單說明】

圖一係顯示本發明利用雷射光線經由物鏡聚焦成單一的光點，來照射樣品單點的特定深度。

圖二係顯示本發明將樣本做正面掃圖與反面掃圖之示意圖。

圖三係顯示本發明整個顯微鏡正、反掃圖影像套合系統流程圖。

圖四為顯示本發明做傅氏轉換整個執行的過程。

圖五（a）為顯示本發明做邊緣檢測之影像。

圖五（b）為顯示 Sobel 運算子對圖五(a)做完邊緣檢測後之梯度強度影像。

圖五（c）為顯示 Sobel 運算子做完邊緣檢測後影像  $f$  內有明顯邊緣變化的區域。

圖六為顯示本發明利用相關匹配之方法所得的相關係數，可在影像  $f$  中找出與樣板  $w$  最相似的區域。

圖七為顯示本發明在反面掃圖影像組中最突出峰值的位置。

圖八係顯示本發明確定正、反面掃圖影像組在  $Z$  軸上的重疊位置之流程圖。

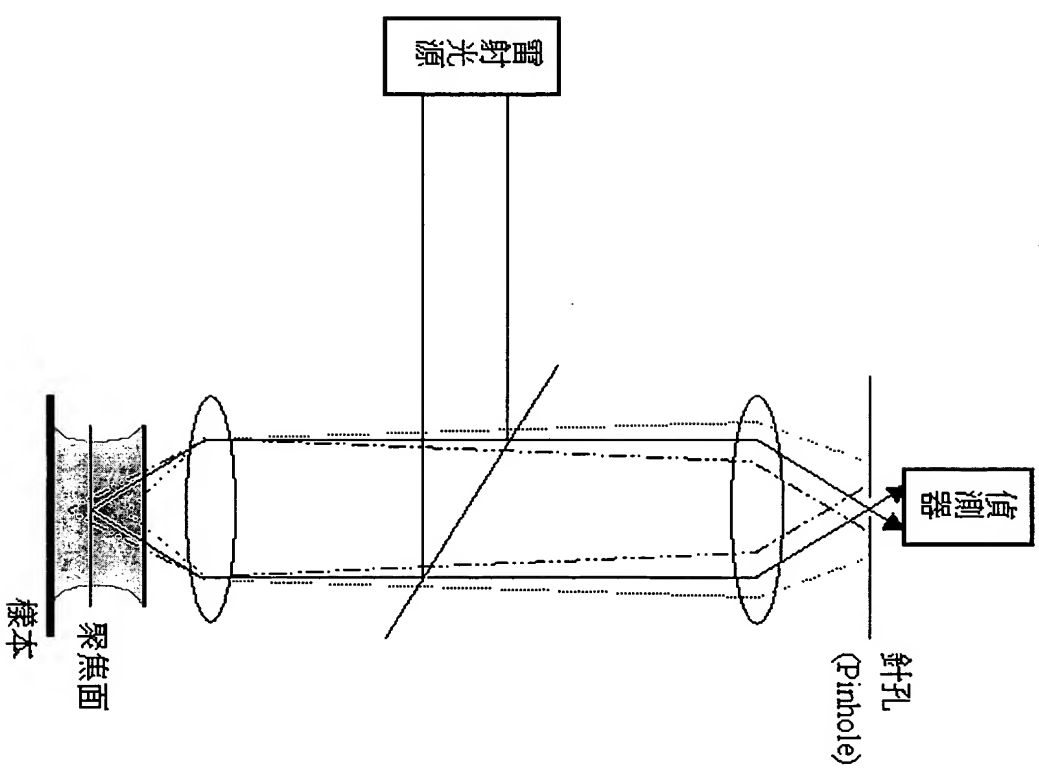
圖九為顯示生物樣本正、反面掃圖之表面圖。

圖十為顯示生物樣本正、反掃圖做影像套合後之完整立體影像。

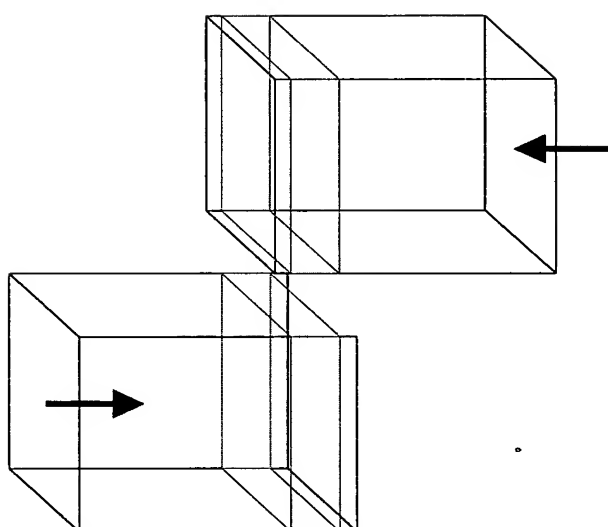
## 拾、申請專利範圍

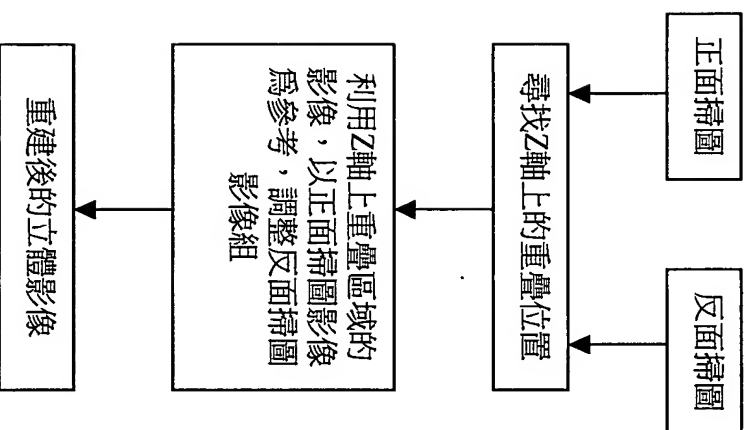
1. 一種生物顯微鏡影像技術以正反掃描與 3D 影像套合達到增加景深及解析度之方法，係從樣品正面掃描一組或多組 3D 影像再從反面掃描一組或多組 3D 影像，配合 X、Y 方向平移、Z 軸旋轉而將正反掃描之兩組或多組的 3D 影像套合成完整的一組加倍深度且大體積之 3D 影像技術，以達到減少厚生物組織切片數並增加生物影像景深及解析度。
2. 依據申請專利範圍第 1 項所述之生物顯微鏡影像技術以正反掃描與 3 D 影像套合達到增加景深及解析度之方法，係將固定在三維空間後之樣本本，分別從正、反面進行掃描，然後整合運用習知之快速傅利葉轉換等數學方法，判定正、反掃描所得影像組在 Z 軸上之重疊位置後，以正面掃描的影像組當做參考，調整反面掃描影像的 Z 軸座標、X Y 平面的平移量，與以 Z 軸為軸心的旋轉量，合併上下、左右及正反影像，並融合重覆影像之套合方法，藉以得到景深更深且完整的顯微鏡立體影像。
3. 依據申請專利範圍第 1 項所述之生物顯微鏡影像技術以正反掃描與 3 D 影像套合達到增加景深及解析度之方法，其可以使用單一或多波長激發光輔助顯微鏡取像，以改善立體影像之解析度。
4. 依據申請專利範圍第 1 項所述之生物顯微鏡影像技術以正反掃描與 3 D 影像套合達到增加景深及解析度之方法，其可以搭配多光子顯微鏡使用以提高其立體影像之解析度。
5. 依據申請專利範圍第 1 項所述之生物顯微鏡影像技術以正反掃描與 3 D 影像套合達到增加景深及解析度之方法，其可以應用於但不限於共軛焦顯微影像的組合而達到增加厚組織清晰度及深度。

## 拾壹、圖式



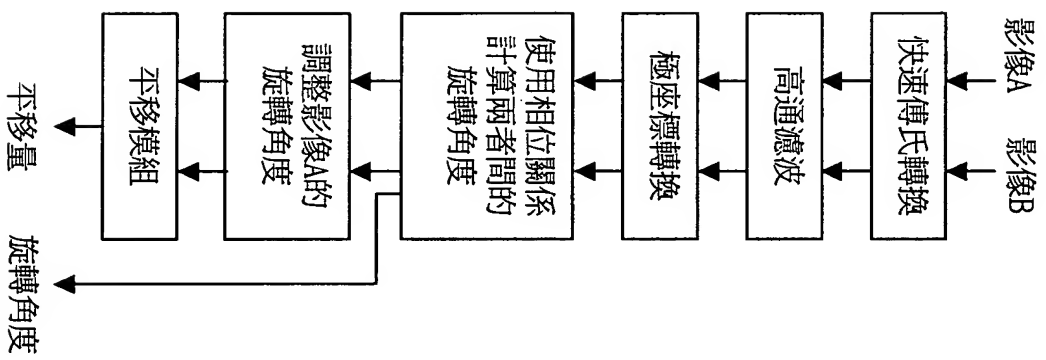
圖一



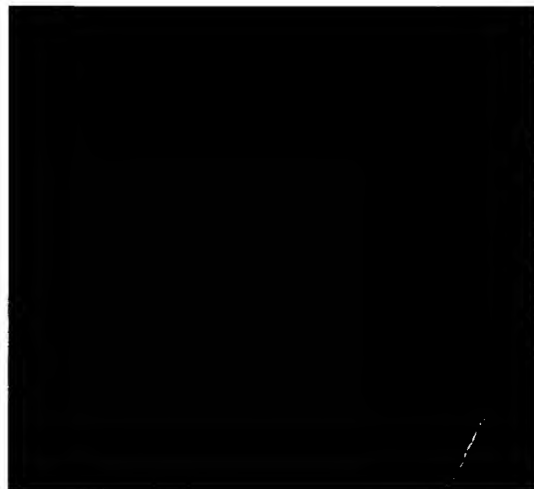


圖三





圖四



圖五(a)

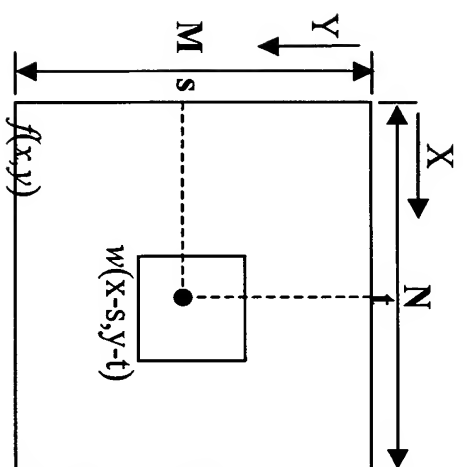


圖五(b)

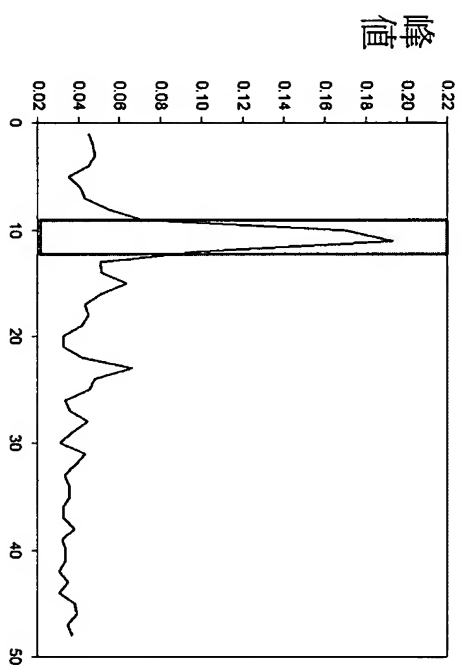


圖五(c)

Best Available Copy

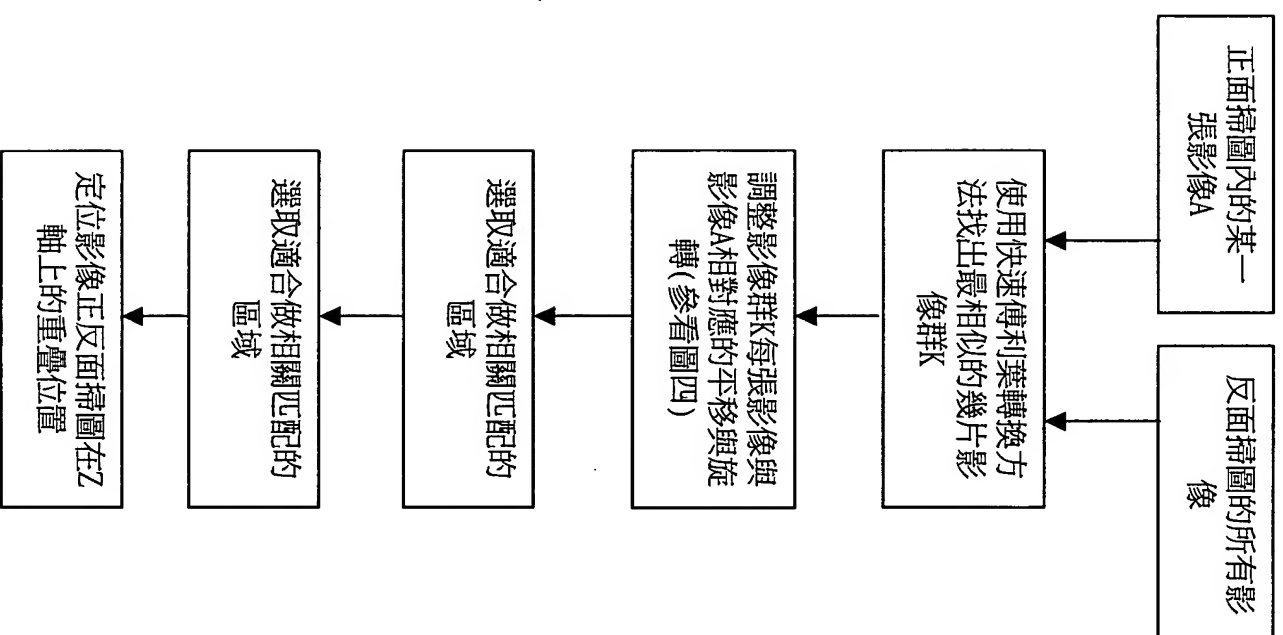


圖六



反面掃描Z軸上的位置

圖七



圖八



圖九

Best Available Copy



Best Available Copy